ПАРАЗИТОЛОГИЯ, VIII, 2, 1974

УДК 576.893.192.1

АКТИВНОСТЬ ФОСФАТАЗ СЛИЗИСТОЙ ОБОЛОЧКИ ТОНКОГО КИШЕЧНИКА ЦЫПЛЯТ ПРИ ОДНО- И ТРЕХКРАТНОМ ЗАРАЖЕНИИ КОКЦИДИЯМИ EIMERIA TENELLA

М. А. Мусаев и А. М. Суркова

Институт зоологии АН Азербайджанской ССР, Баку

Определяли сдвиги в активности фосфатаз слизистой оболочки тонкого кишечника цыплят при одно- и трехкратном заражении *E. tenella* (100 000 ооцист). Установлено, что однократное заражение сопровождается понижением активности щелочной фосфатазы, уровень которой к 20-му дню после заражения нормализуется. Активность кислой фосфатазы не изменяется. При втором и третьем повторных заражениях, когда организм птиц находится в иммунном состоянии, в противовес первому, происходит увеличение активности щелочной и кислой фосфатаз в постпатентный период.

Проведенное нами ранее изучение активности фосфатаз слизистой оболочки тонкого кишечника при заражении цыплят небольшой дозой ооцист *E. tenella* (5000) показало снижение уровня активности щелочной фосфатазы по ходу развития патологического процесса и относительную стабильность активности кислой фосфатазы (Мусаев и Суркова, 1972).

В естественных условиях заражение птиц может происходить не только малыми, но и большими дозами паразита, возможны и повторные заражения через определенные промежутки времени. Учитывая это обстоятельство и значительную роль фосфатаз в обменных процессах животного организма, особенно в обмене фосфора, представляет интерес изучить динамику активности щелочной и кислой фосфатаз слизистой оболочки тонкого кишечника при однократной инвазии цыплят большой дозой ооцист *E. tenella* и ряде повторных заражений, т. е. в организме хозяина, претерпевшем иммунологическую перестройку.

Литературные сведения об изменении активности фосфатаз слизистой оболочки кишечника при кокцидиозах крайне ограничены. Нам известны лишь работы Рэя и Гила (Ray a. Gill, 1954) и Качановой (1970), выполненные гистохимическими методами, об активности щелочной фосфатазы эпителия слепых отростков, двенадцатиперстной кишки и Гила и Рэя (Gill a. Ray, 1954) об активности кислой фосфатазы слепых отростков цыплят, зараженных *E. tenella*.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДИКА

Эксперименты проведены на стерильных по кокцидиозу цыплятах породы белый плимутрок с использованием для заражения чистой культуры *E. tenella* в дозе 100 000 ооцист на голову. Для однократного заражения были использованы цыплята 20-, 40-, 60-дневного возраста. Забой опытных цыплят проводили натощак на 3, 5, 7, 10, 20-й день после начала экспериментальной инвазии. Контролем служили незараженные цыплята соответствующего возраста, забитые на 3-й (контроль I) и 20-й (контроль II) день от начала опыта, в том же количестве. Результаты, полученные на 3, 5, 7, 10-й день сравнивали с контролем I, данные 20-го дня — с контролем II.

В опытах трехкратного заражения при первоначальном введении инвазионного начала возраст цыплят был 40-дневным, при втором введении — 60-дневным и третьем — 80-дневным. Биохимические исследования проводили на 20-й день от начала каждого заражения, т. е. в 60-, 80-, 100-суточном возрасте цыплят. В качестве контроля использовали данные, полученные от незараженных 60- и 80-дневных цыплят (для 80- и 100-суточных опытных цыплят использован один и тот же контроль). Цыплят обеих групп забивали натощак по 10 голов одновременно. Изменения после первого заражения рассматривали как в инвазированном организме, а после второго и третьего заражений как в иммунном организме.

Активность фосфатаз определяли в соскобах слизистой оболочки переднего отдела тонкого кишечника по методу С. Балаховского и И. Балаховского (1953). В качестве субстрата использовали β-глицерофосфат натрия, растворенного в мединаловом буфере pH 9.0—9.1 для щелочной и 5.0—5.1 для кислой фосфатазы. За активность фермента принимали количество фосфора, отщепившегося от субстрата за один час инкубации при 37°. Результаты выражали в миллиграммах фосфора на грамм (мг P/г) слизистой оболочки. Полученные данные обработаны биометрически.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Материалы, полученные в результате однократного заражения цыплят 100 000 спорулированных ооцист *E. tenella*, показали, что при этом активность щелочной фосфатазы в слизистой оболочке тонкой кишки у цыплят всех возрастов (20-, 40-, 60-дневных) значительно снижается (табл. 1). Понижение активности фермента наиболее выражено у 20-дневных, наименее — у 60-дневных цыплят. Начало понижения активности щелочной фосфатазы наступает несколько раньше у 20-дневных цыплят (3-й день после заражения), чем у 40- и 60-дневных (5-й день после заражения). Самое глубокое снижение активности щелочной фасфатазы отмечалось на 5—7-й день после инвазии. У 20-дневных цыплят это составляло 2.49 и 3.08, у 40-дневных — 2.07 и 1.71, у 60-дневных — 2.14 и 2.05 мг P/г слизистой оболочки. При этом пик понижения активности фермента у 40- и 60-дневных цыплят приходится на 5-й, у 20-дневных — на 7-й день от начала опыта.

Скорость восстановления активности фермента снижается с уменьшением возраста. Если у 60-дневных цыплят активность фермента выходит на уровень нормы к 10-му дню после заражения, то у 40-дневных — только к 20-му. Проследить динамику восстановления активности этого фермента у 20-дневных цыплят не удалось, так как ни одна зараженная птица не дожила до 10-го и 20-го дня опыта.

Понижение активности щелочной фосфатазы в слизистой оболочке тонкого кишечника при заражении цыплят большой дозой ооцист *E. tenella* наступает, вероятно, не только в результате инактивации фермента продуктами метаболизма кокцидий и сопутствующей микрофлоры, но и вследствие большой потери крови, являющейся одной из причин развития гипопротеинемии. Появление же белковой недостаточности в животном организме понижает интенсивность образования ферментов (Афонский, 1970). Проводя сопоставление этих данных с полученными ранее результатами (табл. 2), следует отметить, что закономерность изменения уровня активности щелочной фосфатазы слизистой оболочки тонкого кишечника при заражении большой дозой ооцист такая же, как и при заражении малой дозой, а именно зависит от возраста хозяина и стадии развития паразита в стенках слепой кишки. С увеличением возраста хозяина глубина снижения активности щелочной фосфатазы уменьшается.

Таблица 1

Активность фосфатаз слизистой оболочки тонкого кишечника цыплят при однократном заражении *E. tenella* в дозе 100 000 ооцист (в мг Р/г ткани)

Возраст цыплят (в днях)	Систематические показатели	Контроль I	Дни после заражения					Контроль II
			3-й	5-й	7-й	10-й	20-й	
			Активность щелочной фосфатазы					
20	M+m	6.88+0.36	4.88±0.35	4.39±0.07	3.800.17	—	—	6.17±0.40
	P	—	W0.01	W0.001	W0.001			
40	M+m	6.17±0.40	5.86±0.28	4.10±0.25	4.46±0.20	5.03±0.20	5.80±0.31	6.01±0.21
	P	—	×0.5	W0.001	W0.001	W0.01	×0.5	—
50	M+m	6.01±0.21	5.86±0.31	3.87±0.27	3.96±0.22	5.14±0.32	5.64±0.35	5.63±0.20
	P	—	×0.5	W0.001	W0.001	W0.5	×0.5	—
			Активность кислой фосфатазы					
20	M+m	0.648±0.09	0.509±0.23	0.558±0.02	0.612±0.30	—	Э—	0.544±0.84
	P	—	0.5	W0.5	×0.5			—
40	M+m	0.544±0.084	0.567±0.081	0.482±0.02	0.522±0.22	0.525±0.03	0.495±0.05	0.473±0.04
	P	—	×0.5	W0.5	W0.5	×0.5	W0.5	—
60	M+m	0.473±0.04	0.522±0.082	0.434±0.081	0.459±0.094	0.504±0.037	V.436±0.071	0.419±0.037
	P	—	×0.5	×0.5	×0.5	×0.5	×0.5	—

Однако количественные сдвиги при заражении большой дозой кокцидий значительно глубже, чем при заражении малой дозой. Отсюда можно заключить, что глубина изменений активности щелочной фосфатазы при однократном заражении зависит не только от вида паразита, стадии его развития, но также и от дозы заражения.

Из данных, приведенных в табл. 1, следует также, что активность кислой фосфатазы слизистой оболочки тонкого кишечника цыплят, однократно зараженных 100 000 ооцист *E. tenella*, не претерпевает существенных изменений. Подобные же результаты получены нами в предыдущих опытах при заражении цыплят малой дозой (5000) ооцист. По всей вероятности, при кокцидиозе, вызванном *E. tenella* (независимо от дозы заражения), не происходит инактивации кислой фосфатазы слизистой оболочки тонкого кишечника. Такая же мысль была высказана Гилом и Рэем (Gill a. Ray, 1954) об активности этого фермента в слизистой оболочке слепых отростков цыплят, зараженных тем же видом паразита, на основании гистохимических исследований.

Результаты изучения активности фосфатаз слизистой оболочки тонкого кишечника при трехкратном заражении, т. е. при повторных заражениях иммунного организма приведены в табл. 3, из данных которой видно, что активность щелочной и кислой фосфатаз на 20-й день после первого заражения 40-дневных цыплят по существу не отличается от нормы. Однако по ана-

Таблица 2

Снижение (в мг Р/г ткани) активности щелочной фосфатазы слизистой оболочки тонкого кишечника цыплят, зараженных разными дозами *E. tenella*

Возраст цыплят (в днях)	Доза заражения (число ооцист)	Дни после заражения				
		4-й	5-й	7-й	10-й	20-й
20	5000	0.68	1.42	1.11	1.33	0.02
	100000	2.00	2.49	3.08	—	—
40	5000	0.72	1.38	1.06	0.95	0.04
	100000	0.31	2.07	1.71	1.14	0.21
60	5000	0.41	0.91	0.13	0.86	0.04
	100000	0.15	2.14	2.05	0.87	0.01

логии с результатами опытов однократного заражения 40-дневных цыплят (табл. 1) можно полагать, что в более ранние дни инвазии (5, 7, 10-й) после первого заражения у этих птиц были определенные сдвиги в активности щелочной фосфатазы. После второго и третьего заражений уровень активности обоих ферментов значительно увеличивается к 20-му дню с момента инвазии.

Таблица 3

Активность фосфатаз слизистой оболочки тонкого кишечника цыплят при трехкратном заражении *E. tenella* в дозе 100 000 ооцист

(в мг Р/г ткани)

Группа цыплят	Время после заражения (в днях)	Достоверность различий	Заражения		
			первое	второе	третье
Активность щелочной фосфатазы					
Контрольная . .	—		6.01+0.21	5.63+0.20	5.63+0.20
Опытная	20		5.80+0.31	7.66±0.19	7.39+0.22
		P	>0.5	<0.001	<0.001
Активность кислой фосфатазы					
Контрольная . .	—		0.473+0.040	0.419+0.037	0.419+0.37
Опытная	20		0.495+0.050	1.968+0.078	1.482+0.19
			<0.5	<0.001	<0.001

Вместе с тем отмечены различия в степени изменения активности ферментов между отдельными заражениями (табл. 4). Так, разница в активности щелочной фосфатазы между первым и вторым заражениями составляет 1.86 ($P < 0.001$), между вторым и третьим — 0.27 ($P < 0.5$) мг Р/г ткани. Увеличение уровня активности кислой фосфатазы между первым и вторым заражениями — 1.532 ($P < 0.001$) между вторым и третьим — 0.486 ($P < 0.05$) мг Р/г ткани.

Таблица 4

Разница в активности фосфатаз слизистой оболочки тонкого кишечника цыплят в периоды между отдельными заражениями

Периоды между заражениями	Щелочная		Кислая	
	мг Р/г слизистой оболочки	P	мг Р/г слизистой оболочки	P
I и *II*	1.86	< 0.001	1.532	< 0.001
II и *III*	0.27	< 0.5	0.486	< 0.05

Таким образом, настоящее исследование дает основание констатировать, что имеется разница в степени нарастания активности щелочной фосфатазы слизистой оболочки кишечника у неиммунных и иммунных цыплят. Если у неиммунного хозяина к началу постпатентного периода активность фермента после снижения в предыдущие дни достигает только нормы, то у иммунного она превышает этот уровень.

Как отмечалось выше, активность кислой фосфатазы слизистой оболочки тонкого кишечника при однократном заражении стерильных по кокцидиозу цыплят не подвергается изменениям. После заражения предварительно иммунизированных птиц (второе и третье заражение) активность кислой фосфатазы значительно увеличивается.

Повышение уровня активности фосфатаз слизистой оболочки тонкого кишечника в ходе иммунизации цыплят, вероятно, связано с усилением обменных процессов в ходе выработки организмом иммунитета.

Динамика изменения активности щелочной и кислой фосфатаз от первого заражения к третьему отражает, возможно, одно из звеньев механизма постепенного формирования иммунитета у цыплят к *E. tenella*.

Литература

Афонский С. И. 1970. Биохимия животных. Изд. Высш. шк., М : 152—153.

Балаховский С. Д. и Балаховский И. С. 1953. Методы химического анализа крови. Медгиз, М. : 286.

Качанова С. П. 1970. Щелочная фосфатаза в жизненном цикле E. tenella. Тр. МВА, 54 : 171—173.

Мусаев М. А. и Суркова А. М. 1972. Изменение активности кишечных фосфатаз при экспериментальных кокцидиозах (Eimeria tenella, E. mitis), Паразитол., 6 (1) : 11—15.

Gill B. S. a. Ray H. N. 1954. Phosphatase and their significance in Eimeria tenella Railliet et Lucet, 1891. Indian J. Veterin. Sci. and Animal Husbandry, 24 (4) : 239—244.

Ray H. N. a. Gill B. S. 1954 Preliminary observations on alkaline phosphatase in experimental Eimeria tenella infection in chicks. Ann. Trop. Med. and Parasitol., 48 (1) : 8—10.

THE ACTIVITY OF PHOSPHOTASES OF THE MUCOUS COAT OF THE THIN INTESTINE AT ONE OR THREE SUCCESSIVE INFECTIONS OF CHICKENS WITH EIMERIA TENELLA

M. A. Musaev and A. M. Surkova

SUMMARY

Chickens were one or three times infected with oocysts of *Eimeria tenella* (100.000 oocysts per one chicken) in order to study the activity of phosphotases of the mucous coat of the thin intestine. It was established that a single infection of 20-, 40- and 60-day-old chickens decreased the activity of alkalinous phosphotase. The activity of acid phosphotase did not change. In the experiment with three successive infections these indices were different on the 20th day after the first infection and after each of two subsequent infections. On the 20-th day after the first infection no changes were noted while after two subsequent infections an increase of the activity of alkalinous and acid phosphotases was registered.